第 **11** 講　バイオテクノロジー
# PART1　遺伝子を扱った技術

目標
- ・遺伝子組換え技術を理解する。
- ・PCR 法と電気泳動法，サンガー法（ジデオキシ法）を理解する。

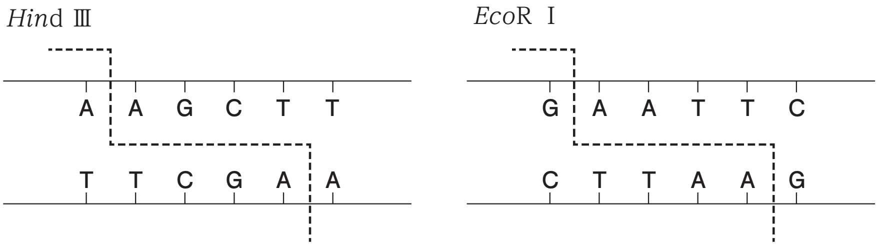
## Chapter1　遺伝子組換え

ある生物の遺伝子を含む DNA 断片を別の DNA に組み込み，細胞に導入することを（　　　　　　　　　）という。

### ◆ 遺伝子組換えに用いる試料

・目的の遺伝子を含む DNA

・（　　　　　　　　）：細菌に由来する DNA 切断酵素。さまざまな種類があり，それぞれ特定の塩基配列を認識して切断する。




・（　　　　　　　　　　　）：DNA 断片どうしを連結する酵素。

・（　　　　　　　　）：大腸菌などがもつ，ゲノム DNA とは別の小さい環状 DNA。
導入したい遺伝子を組み込んで，運び手として用いる DNA を（　　　　　　　）という。

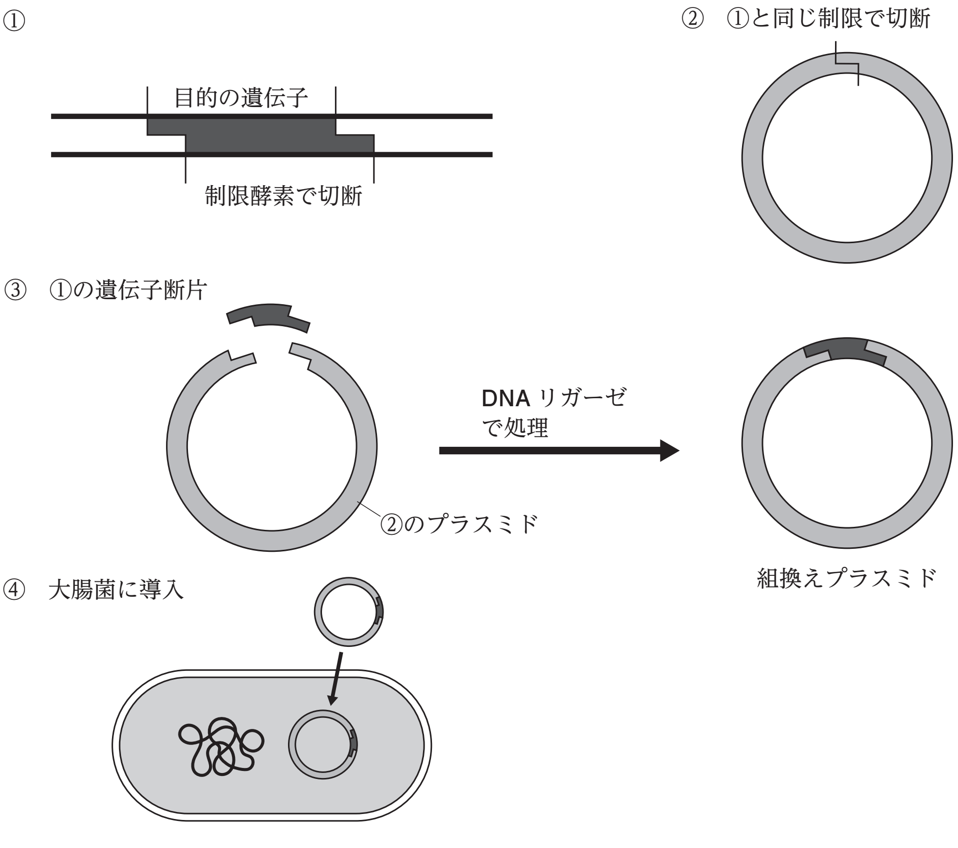
## ◆ 遺伝子組換えの流れ

① 目的の遺伝子を制限酵素で切り出す。

② 同じ制限酵素でプラスミドを処理して，開環させる。

③ ①，②で得られた DNA を混合し，DNA リガーゼで処理することで組換えプラスミドを作製する。

④ 組換えプラスミドを大腸菌に導入する。




大腸菌の増殖にともなってプラスミドも増殖し，組み込んだ遺伝子が発現することで，その産物を得ることもできる。

# Chapter2　PCR法

PCR 法：(　　　　　　　　　　　　　　　)で，解析したい DNA を大量に増やすことができる。

## ◆ PCR法に用いる試料

・増幅したい DNA

・DNA ポリメラーゼ：温泉に生息する細菌由来のもので，耐熱性がある。

・DNA ヌクレオチド：塩基として A，T，G，C，糖としてデオキシリボース。

・プライマー：目的の領域の両端に結合する短い DNA 断片。

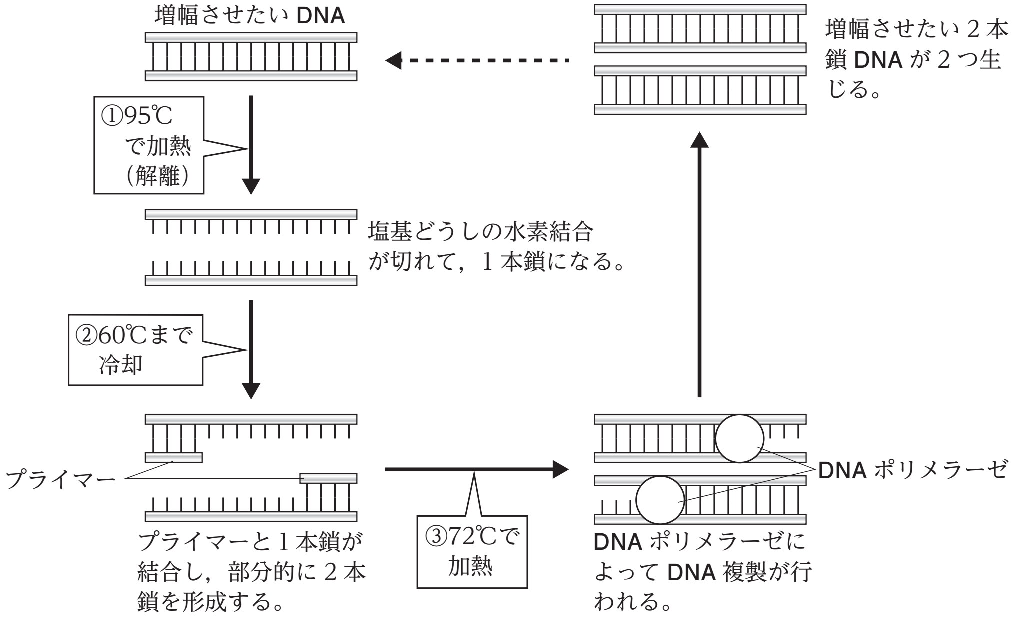
## ◆ PCR法の手順

95℃→ 60℃→ 72℃　の温度変化を 1 サイクルとして，これらの試料に繰り返し温度変化を加えることで目的の DNA 断片を増やすことができる。

95℃：塩基間の水素結合が切れることで，2 本鎖 DNA が 1 本鎖に開裂する。

60℃：目的の領域にプライマーが結合する。

72℃：DNA ポリメラーゼの最適温度で DNA 伸長反応が進む。

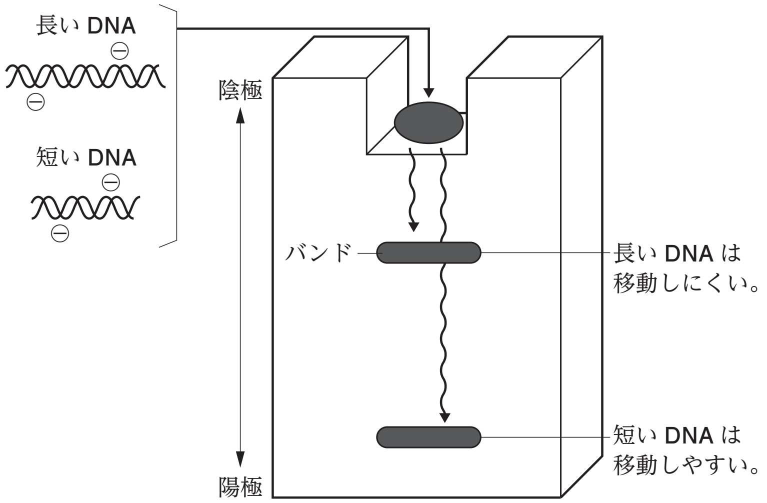


# Chapter3　電気泳動法とサンガー法

## ◆ 電気泳動法

大きさの異なる分子を分離する方法として，(　　　　　　　　　)がある。

DNA は水溶液中で負の電荷をもっているため，DNA を含む試料を寒天でできたゲルのくぼみにいれ電圧をかけると，DNA は正極側に移動する。より小さな分子ほどゲル内をスムーズに移動するため，泳動距離は長くなる。移動距離の違いを利用して，試料内の DNA 分子の大きさを判断することができる。

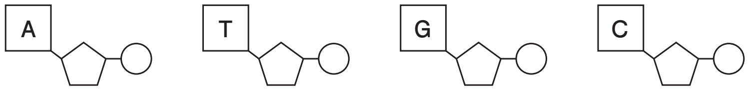


## ◆ サンガー法（ジデオキシ法）

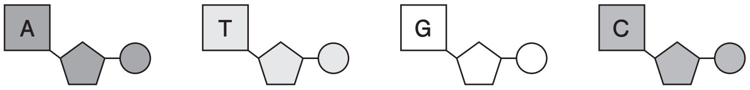
DNA の塩基配列を調べる方法の一つに，サンガー法がある。サンガー法では，次のものを試料として用いる。

・塩基配列を調べたい一本鎖 DNA　・プライマー　・DNA ポリメラーゼ

・通常の DNA ヌクレオチド

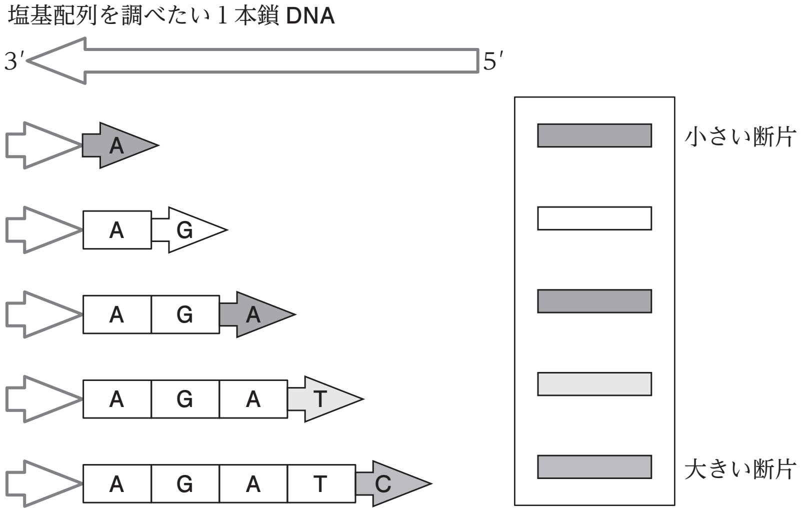



・標識した特殊なヌクレオチド




※特殊なヌクレオチドが DNA 合成に用いられると反応が停止する。

これらを混合して，塩基配列を調べたい一本鎖 DNA に対して相補鎖の合成を行うと，さまざまな長さの DNA 断片が得られる。




合成される新生鎖は，AGATC
→調べたい DNA 鎖は，TCTAG

**まとめ**

・制限酵素と DNA リガーゼを用いて遺伝子組換えが行われる。
・PCR 法や電気泳動法，サンガー法などのバイオテクノロジーがある。

# Chapter4　演習問題

**問**　次の文中の空欄（　ア　）～（　オ　）に入る適切な用語を答えよ。

ある生物の遺伝子の DNA 断片を，別の生物の DNA につなぎ込み，細胞に導入する技術を遺伝子組換えという。遺伝子組換え技術で目的の DNA 断片を切り出すために用いられる（　ア　）は，DNA 上の特定の塩基配列を認識して切断する酵素である。同じ（　ア　）で切断した二種類の DNA 断片を混合し，（　イ　）という酵素を作用させると，DNA 断片どうしが連結される。

特定の遺伝子について研究するには，生物のゲノムから目的の遺伝子を単離し，増幅する必要がある。その場合，目的の遺伝子を組込んだベクターを大腸菌に取り込ませ，増殖させて遺伝子を増やす。近年では，この方法以外に（　ウ　）を利用して目的の遺伝子を増やす PCR 法が開発され，広く用いられるようになった。

PCR 法では，増幅させたい遺伝子領域と相補的に結合する DNA 配列をもつ２種類の（　エ　）を予め準備しておく必要がある。増幅させたい DNA 断片，（　ウ　），（　エ　），および４種類の（　オ　）を試験管内で反応させることで，目的の DNA が増幅できる。この反応を繰り返すことによって，PCR 法では短時間で多量の遺伝子断片を得ることができる。

# 第11講　PART1　確認問題

問１　ある生物の遺伝子を含む DNA 断片を別の DNA に組み込み，細胞に導入することを遺伝子組換えという。

DNA の特定の塩基配列を認識して切断する（　ア　）と，DNA 断片どうしを連結する（　イ　）を用いて，遺伝子組換えが行われる。

(1)　文中の（　ア　）に当てはまる語句として最も適当なものを，次の①～④のうちから一つ選べ。

①　DNA リガーゼ　　②　DNA ヘリカーゼ
③　制限酵素　　④　DNA ポリメラーゼ

(2)　文中の（　イ　）に当てはまる語句として最も適当なものを，次の①～④のうちから一つ選べ。

①　DNA リガーゼ　　②　DNA ヘリカーゼ
③　制限酵素　　④　DNA ポリメラーゼ

(3)　大腸菌などがもつ，ベクターとして利用される小さい環状 DNA を何というか。最も適当なものを，次の①～④のうちから一つ選べ。

①　インスリン　　②　プラスミド
③　プライマー　　④　ヒストン

問２　PCR 法（ポリメラーゼ連鎖反応法）では，次のⅠ～Ⅲの温度変化を繰り返し行っている。

Ⅰ　目的の DNA 水溶液を約 95℃に加熱する。
Ⅱ　温度を約 60℃に下げる。
Ⅲ　温度を約 72℃に上げる。

(1) PCR 法の目的として最も適当なものを，次の①～③のうちから一つ選べ。

① DNA の分離　② DNA の増幅

③ DNA の塩基配列の解析

(2) 目的の領域に，プライマーを結合させるために行われる温度変化として最も適当なものを，次の①～③のうちから一つ選べ。

① Ⅰ　② Ⅱ　③ Ⅲ

(3) DNA ポリメラーゼによって，1 本鎖 DNA に 4 種類のヌクレオチドを結合させて，DNA を複製するために行われる温度変化として最も適当なものを，次の①～③のうちから一つ選べ。

① Ⅰ　② Ⅱ　③ Ⅲ

問３ DNA は水溶液中で（　ア　）の電荷をもっているため，電気を通す水溶液中で DNA に電圧を加えると，DNA は（　イ　）極側に移動する。小さい分子ほど，分子の移動距離は長くなる。このように，大きさの異なる分子を分離する方法を（　ウ　）という。

(1) 文中の（　ア　），（　イ　）に当てはまる語句の組合せとして最も適当なものを，次の①～④のうちから一つ選べ。

① ア：正　イ：陽　② ア：正　イ：陰

③ ア：負　イ：陽　④ ア：負　イ：陰

(2) 文中の（　ウ　）に当てはまる語句として最も適当なものを，次の①～④のうちから一つ選べ。

① サンガー法　② 電気泳動法

③ 誘導　④ 解糖

# 第 11 講　バイオテクノロジー

## PART1　遺伝子を扱った技術

問　ア：制限酵素　イ：DNA リガーゼ　ウ：DNA ポリメラーゼ

エ：プライマー　　オ：ヌクレオチド

# 第 11 講　PART1　確認問題　解答

## 問 1

(1)　③

解説：
制限酵素は，細菌に由来する DNA 分解酵素で，さまざまな種類があり，それぞれ特定の塩基配列を認識して切断する。

(2)　①

解説：
DNA リガーゼは，DNA 断片どうしを連結する酵素である。

(3)　②

解説：
大腸菌は，ゲノム DNA とは別に，プラスミドという小さい環状の DNA をもっていて，これがベクターとして利用される。

## 問 2

(1)　②

解説：
PCR 法（ポリメラーゼ連鎖反応法）で，解析したい DNA を大量に増やすことができる。

(2)　②

解説：
約 60℃で，目的の領域にプライマーが結合する。

⑶　③

解説：
約 72℃は，PCR 法に用いられる耐熱性 DNA ポリメラーゼの最適温度なので，DNA 合成の伸長反応が進む。
操作Ⅰは，塩基間の水素結合を切って，2 本鎖 DNA を 1 本鎖に開裂するために行われる。

## 問3

⑴　③

解説：
DNA は水溶液中で負の電荷をもつので，DNA を含む試料を寒天でできたゲルのくぼみにいれ電圧をかけると，DNA は陽極側に移動する。

⑵　②

解説：
電気泳動法では，DNA を大きさによって分離することができる。